

Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe

M. G. D. Melo¹; G. A. A. Dória²; M. R. Serafini²; A. A. S. Araújo³

¹Núcleo de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-Se, Brasil

²Núcleo de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-Se, Brasil

³Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-Se, Brasil
marceliagdmelo@bol.com.br

(Recebido em 27 de agosto de 2011; aceito em 04 de abril de 2012)

Os parâmetros hematológicos e bioquímicos podem variar entre linhagens e cepas diferentes de uma dada espécie e também em função do método de coleta de sangue. Desta forma, é fundamental determinar os valores de referência para animais de diferentes biotérios de acordo com a espécie, a dieta, a linhagem, o sexo e a idade. Foram utilizados ratos Wistar saudáveis (140-310 g) de ambos os gêneros. Foi avaliado o perfil hematológico (leucócitos: total e diferencial, hemácias, hemoglobina, hematócrito, alguns índices hematimétricos e plaquetas) e a determinação bioquímica de vários constituintes plasmáticos (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, proteína total, globulina, albumina, glicose, creatinina, uréia, colesterol total, triglicerídeos, ácido úrico, potássio e sódio). Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo determinar os valores de referência para os parâmetros hematológicos e bioquímicos de animais não-tratados oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe.

Palavras-chaves: ratos; análise bioquímica; perfil hematológico

The hematological and biochemical parameters may vary between strains and different strains of a given species and also according to the method of blood collection. Thus, it is essential to establish reference values for animals obtained from different bioterics according to species, diet, strain, sex and age. Healthy Wistar rats (150-200g) of both genders were used. The hematological profile (leucocytes: total and differential, red blood cells, hemoglobin, hematocrit, some hematological indexes and platelets) and biochemical determination of various constituents (aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, total protein, globulin, albumin, glucose, creatinine, urea, total cholesterol, triglycerides, uric acid, potassium and sodium) were determined. Thus, this study aimed to determine reference values for hematological and biochemical parameters of untreated animals from the Central Biotery at the Federal University Sergipe.

Keywords: rats, blood chemical; biochemistry profile; hematological profile

1. INTRODUÇÃO

A utilização de animais de laboratório é de suma importância nas pesquisas científicas contribuindo sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia [1]. É através destas pesquisas que o avanço sobre o conhecimento dos mecanismos vitais como também o aperfeiçoamento dos métodos de prevenção, diagnóstico e tratamento de diversas doenças vêm se desenvolvendo ao longo dos anos [2].

Segundo Pinheiro *et al.* (2003) camundongos e ratos, como os demais mamíferos em estado de higiene, têm que manter seu meio interno constante e um controle rigoroso dos limites de sua variação. Por essa razão, o conhecimento dos valores dos diferentes parâmetros fisiológicos é critério significativo para a avaliação da homeostase, para a avaliação de modificações induzidas por processos patológicos e para a avaliação dos resultados obtidos nos procedimentos experimentais. Apesar da existência de mecanismos próprios de controle dos valores dos parâmetros fisiológicos, sabe-se que ratos e camundongos podem apresentar

variações nesses parâmetros, relacionados com gênero, linhagem, genótipo e podem ser influenciados pela idade, dieta, manuseio, ambiente, entre outros fatores [3].

Assim, os animais experimentais não se comportam do mesmo modo nas condições a que estão submetidos nos diferentes países onde são mantidos em cativeiro, sendo também influenciados por vários fatores ecológicos característicos de cada latitude geográfica do planeta [4].

Habitualmente, os valores dos parâmetros fisiológicos dos animais de experimentação são determinados em países com longa tradição de manutenção de biotérios e são admitidos como constantes, para os animais de uma mesma linhagem no mundo [3]. Os valores de referência comumente utilizados são provenientes de literatura, em sua grande parte estrangeira [4].

Os valores de referência hematológicos e bioquímicos em ratos não-tratados são dados de grande valor como ponto de partida para diversos estudos, tais como as avaliações de efeitos farmacológicos e toxicológicos sobre estes parâmetros.

Diante destes fatos, é imprescindível que cada laboratório ou biotério estabeleça o respectivo conjunto próprio de valores de referência dos animais normais controle, de acordo com a linhagem, gênero e idade de cada espécie utilizada [5].

Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar os valores de referência para os parâmetros hematológicos e bioquímicos de animais não-tratados, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe, a fim de auxiliar os laboratórios de pesquisas desta instituição identificar alterações na homeostasia dos animais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 65 animais, *Rattus norvegicus* linhagem Wistar, com idade entre dois e três meses de ambos os gêneros, machos e fêmeas, adultos, normais e saudáveis, pesando 140-310 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. Os animais foram criados em caixas de polipropileno, com cama de maravalha, mantidos sob condições controladas de temperatura ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), ciclo claro e escuro de 12 horas, comida e água *ad libitum*. Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais/UFS sob o protocolo 23/2010.

Os animais foram submetidos a 12 horas de jejum antes da coleta e o sangue coletado pela artéria mesentérica superior com os animais anestesiados por inalação com éter etílico 50% (Éter Hospitalar, DR PQP). O sangue foi distribuído em tubos contendo anticoagulante EDTA sódico a 10% e em tubos seco para realização dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, respectivamente. Após a coagulação do sangue em tubos seco, os tubos foram centrifugados durante 10 minutos a 3500 rpm (rotações por minuto) para a separação do soro.

Foram analisados os seguintes parâmetros fisiológicos: (1) hematológico: leucócito total, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, monócitos, hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), curva de distribuição das hemácias de acordo com o volume eritrocitário (RDW-SD), coeficiente de variação da média do volume das hemácias (RDW-CV) e volume plaquetário médio (VPM) plaquetas; (2) bioquímico: aspartato aminotransferase (AST ou TGO), alanina aminotransferase (ALT ou TGP), fosfatase alcalina (ALP ou FA), proteína total, globulina, albumina, glicose, creatinina, uréia, colesterol total, triglicerídeos, ácido úrico, potássio e sódio.

Os parâmetros hematológicos foram analisados através de contador automatizado Sysmex, modelo, Xs1000i (Roche) e as lâminas avaliadas através de microscopia óptica, mediante *Flags* apresentados pelo analisador, já os parâmetros bioquímicos foram dosados através de analisador automatizado ABBOTT, modelo, ARCHITECT C 8000.

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para cada parâmetro avaliado, os valores foram expressos como média e desvio padrão(SD) e por faixa de valores.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse trabalho buscou estabelecer parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar proveniente do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe com o intuito de estabelecer valores de homeostasia normal que permitam comparação entre diversas pesquisas realizadas, principalmente, por esta instituição.

A Organização Mundial de Saúde (OMS), a Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) e o Instituto de Padronização Clínica e Laboratorial (CLSI) definem valor de referência como um valor (resultado) obtido pela observação ou mensuração quantitativa de um analito em um indivíduo selecionado, com base em critérios bem definidos [6].

Os roedores têm sido os animais mais utilizados pelos centros de pesquisa, sendo importantes para estudos científicos em diversas áreas, por possuírem características fisiológicas e genéticas semelhantes à dos humanos [7].

Linhagens de animais de experimentação, quando padronizadas, atuam como ferramentas capazes de simular as complexas interações de órgãos e sistemas, possibilitando a compreensão *in vivo* dos eventos relacionados ao desenvolvimento da doença [8].

Os parâmetros bioquímicos dos ratos Wistar de ambos os gêneros realizados por este estudo estão representados na tabela 1. A tabela 2 compara os dados da presente pesquisa com dados de outros estudos semelhantes.

Tabela 1: Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar de ambos os gêneros. Valores expressos em média \pm S.D. e por faixa de valores (menor e maior valor). (n) – número de animais.

Parâmetros (Unid.)	Média \pm S.D. (n) Machos	Faixa Machos	Média \pm S.D. (n) Fêmeas	Faixa Fêmeas
FA / ALP (U/L)	127,1 \pm 35,55 (21)	79 - 196	106,9 \pm 20,69 (27)	63 - 138
TGP / ALT (U/L)	48,4 \pm 6,46 (23)	36 - 58	41,0 \pm 7,63 (41)	26 - 60
TGO / AST (U/L)	131,7 \pm 23,09 (23)	81 - 180	132,7 \pm 27,23 (38)	83 - 184
Colesterol (mg/dL)	67,4 \pm 8,72 (11)	55 - 79	75,1 \pm 12,29 (35)	46 - 101
Proteína Total (g/dL)	6,2 \pm 0,26 (24)	5,4 - 6,6	6,5 \pm 0,29 (41)	6,1 - 7,4
Albumina (g/dL)	3,0 \pm 0,12 (24)	2,7 - 3,2	3,1 \pm 0,16 (41)	2,6 - 3,4
Globulina (g/dL)	3,1 \pm 0,20 (24)	2,7 - 3,5	3,4 \pm 0,27 (41)	3,1 - 4,3
Creatinina (mg/dL)	0,5 \pm 0,05 (24)	0,44 - 0,64	0,5 \pm 0,07 (41)	0,4 - 0,7
Uréia (mg/dL)	35,9 \pm 3,58 (24)	30 - 42	43,7 \pm 7,42 (41)	30 - 57
Ácido Úrico (mg/dL)	1,3 \pm 0,34 (24)	0,9 - 2,0	1,6 \pm 0,39 (34)	1,2 - 2,5
Triglicerídeo (mg/dL)	89,9 \pm 29,16 (24)	42 - 160	69,8 \pm 20,75 (41)	39 - 130
Sódio (mmol/L)	138,7 \pm 3,06 (24)	135 - 144	137,8 \pm 3,34 (41)	132 - 146
Potássio (mmol/L)	4,7 \pm 0,53 (23)	4,2 - 6,4	4,2 \pm 0,46 (36)	3,7 - 5,7
Glicose (mg/dL)	104,0 \pm 17,18 (24)	79 - 144	106,2 \pm 20,25 (41)	61 - 147
BILT (mg/dL)	0,07 \pm 0,02 (24)	0,07 - 0,08	0,08 \pm 0,01 (41)	0,07 - 0,09
BILD (mg/dL)	0,03 \pm 0,02 (24)	0,01 - 0,03	0,02 \pm 0,01 (41)	0,01 - 0,03
BILI (mg/dL)	0,01 \pm 0,0 (24)	0,01 - 0,01	0,01 \pm 0,0 (41)	0,01 - 0,01

*Analisador bioquímico ARCHITECT C8000 (ABBOTT)

Tabela 2: Comparação de parâmetros bioquímicos de machos, obtidos neste estudo, com os valores de outras pesquisas e fontes de referência com o mesmo gênero. (n) – número de animais.

Parâmetros (Unid.)	Ref. 1 (n)	Ref. 2 [#]	Ref. 3 (n)	UFS (n)
FA / ALP(U/L)	124 ± 6,1 (19)	133,9 – 175,3	62 – 230 (163)	79 – 196 (21)
TGP / ALT (U/L)	51 ± 12,3 (42)	114,0 – 290,8	74 – 143 (164)	36 – 58 (23)
TGO / AST (U/L)	81 ± 11,7 (38)	129,0 – 148,1	18 – 45 (164)	81 – 180 (23)
Colesterol (mg/dL)	87 ± 18,1 (51)	98,9 – 110,1	37 – 85 (165)	55 – 79 (11)
Proteína Total (g/dL)	-----	5,5 – 10,4	5,2 – 7,1 (164)	5,4 – 6,6 (24)
Albumina (g/dL)	-----	2,8 – 6,1	3,4 – 4,8 (164)	2,7 – 3,2 (24)
Globulina (g/dL)	-----	2,6 – 4,3	1,5 – 2,5 (144)	2,7 – 3,5 (24)
Creatinina (mg/dL)	0,5 ± 0,07 (42)	0,3 – 0,6	0,2 – 0,5 (163)	0,44 – 0,64 (24)
Uréia (mg/dL)	48 ± 7,6 (35)	41,0 – 44,6	12,3 – 24,6 (164)	30 – 42 (24)
Ácido Úrico (mg/dL)	-----	-----	-----	0,9 – 2,0 (24)
Triglicerídeo (mg/dL)	82 ± 24,7 (38)	110 – 174,8	20 – 114 (163)	42 – 160 (24)
Sódio (mmol/L)	-----	-----	142 – 151 (165)	135 – 144 (24)
Potássio (mmol/L)	-----	-----	3,8 – 5,5 (165)	4,2 – 6,4 (23)
Glicose (mg/dL)	108 ± 17,4 (64)	150 – 207,5	70 – 208 (165)	79 – 144 (24)
BIL T (mg/dL)	-----	0,3 – 0,7	0,01 – 0,12 (165)	0,07 – 0,08 (24)
BIL D (mg/dL)	-----	0,2 – 1,9	0,03 – 0,05 (109)	0,01 – 0,03 (24)
BIL I (mg/dL)	-----	0,9 – 2,3	0,05 – 0,15 (139)	0,01 – 0,01 (24)

Ref 1: Dantas *et al* (2006) [5].

Ref 2: Centro de Bioterismo da FMUSP (2008) [9].

Ref 3: Laboratório Charles River (2008) [10].

----- Valores não realizados.

[#] O valor de (n) – não disponível.

Os dados hematológicos dos ratos Wistar de ambos os gêneros estão apresentados na tabela 3. Já na tabela 4, estes parâmetros foram comparados com dados obtidos de outros estudos semelhantes.

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de ratos Wistar de ambos os gêneros. Valores expressos em média ± S.D. e por faixa de valores (menor e maior valor). (n) – número de animais.

Parâmetros (Unid.)	Média ± S.D. (n) Machos	Faixa Machos	Média ± S.D. (n) Fêmeas	Faixa Fêmeas
Leucócitos (10 ³ /μL)	9,7 ± 2,21 (23)	5,7 – 13,9	8,3 ± 2,01 (41)	4,7 – 12,98
Hemácias (10 ⁶ /μL)	8,0 ± 0,55 (23)	6,7 – 8,6	7,9 ± 0,34 (41)	7,3 – 8,64
Hemoglobina (g/dL)	14,5 ± 0,78(23)	12,8 – 15,9	14,2 ± 0,53 (41)	13,2 – 15,1
Hematócrito (%)	44,2 ± 2,95 (23)	39,1 – 48,7	42,9 ± 2,14 (41)	39,1 – 48,5
VCM (f)	55,5 ± 2,22 (23)	50,0 – 59,0	54,3 ± 2,80 (41)	49,1 – 62,5
CHM (pg)	18,2 ± 0,57 (23)	17,0 – 19,5	17,9 ± 0,65 (41)	16,6 – 18,9
CHCM (g/dL)	32,8 ± 1,09 (23)	30,5 – 35,3	33,1 ± 1,16 (41)	29,9 – 34,9
RDW-SD (fL)*	28,75 ± 2,56 (23)	25,5 – 33,0	26,81 ± 2,70 (41)	22,7 – 35,4
RDW-CV (%)**	15,90 ± 1,72 (23)	13 – 18,4	14,79 ± 1,24 (41)	12,7 – 18,2
VPM (fL)***	7,52 ± 0,35 (23)	6,9 – 8,0	7,36 ± 0,28 (41)	6,8 – 8,0
Plaquetas (10 ³ /μL)	1095 ± 152,56 (23)	837 – 1455	1004 ± 150,9 (41)	757 – 1476
Neutrófilos (%)	24,8 ± 7,85 (23)	17,1 – 47,9	22,3 ± 6,7 (41)	5,4 – 37,5
Linfócitos (%)	70,0 ± 7,37 (23)	48,7 – 78,1	71,7 ± 7,21 (41)	57,9 – 90,0
Monócitos (%)	3,9 ± 1,31 (23)	1,0 – 6,5	3,9 ± 1,60 (40)	0,6 – 7,9
Eosinófilos (%)	1,3 ± 0,82 (23)	0,3 – 4,0	1,42 ± 0,75 (41)	0,2 – 4,5

- Analisador Hematológico Sysmex Xs1000i (Roche)

* RDW- SD – Curva de distribuição das hemácias de acordo com o volume eritrocitário.

** RDW-CV – Coeficiente de variação da média do volume das hemácias.

*** VPM – Volume plaquetário médio.

Tabela 4. Comparação dos valores de hematologia clínica de machos, obtidos neste estudo, com os valores de outras pesquisas e fontes de referência com o mesmo gênero. (n) – número de animais.

Parâmetros (Unid.)	Ref. 1 [#]	Ref. 2 [#]	Ref. 3 (n)	Ref. 4 (n)	Ref. 5 [#]	UFS (n)
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	9,5 – 12,14	8 – 11,8	1,96 – 8,25 (181)	4 – 12 (28)	6 – 17	5,7 - 13,9 (23)
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	5,0 – 7,62	8,1 – 9,7	7,27 – 9,65 (181)	3,3 – 8,3 (28)	7 – 10	6,7 – 8,6 (23)
Hemoglobina (g/dL)	13,5 – 14,96	13,4 – 15,8	13,7 – 17,6 (181)	7,2 – 16 (28)	11 – 18	12,8 - 15,9 (23)
Hematócrito (%)	40,7 – 44,8	44 – 50	39,6 – 52,5 (181)	28 – 50 (28)	36 – 48	39,1 - 48,7 (23)
VCM (f)	55,7 – 59,9	49,8 – 58	48,9 – 57,9 (181)	46 – 60 (28)	-----	50,0 - 59,0 (23)
CHM (pg)	16,5 – 21,0	-----	17,1 – 20,4 (181)	-----	-----	17,0 - 19,5 (23)
CHCM (g/dL)	31,7 – 34,9	26,2 – 35,4	32,9 – 37,5 (181)	26 – 35 (28)	-----	30,5 - 35,3 (23)
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	-----	-----	638 – 1177 (181)	-----	-----	837 – 1455 (23)
Neutrófilos (%)	31,0 – 34,5	6 – 42	6,2 – 26,7 (179)	10 – 45 (28)	9 – 34	17,1 - 47,9 (23)
Linfócitos (%)	59,3 – 63,2	57 – 83	66,6 – 90,3 (181)	40 – 82 (28)	65 – 85	48,7 - 78,1 (23)
Monócitos (%)	1,3 – 6,7	0 – 0,65	0,8 – 3,8 (179)	0 – 8 (28)	0 – 5	1,0 - 6,5 (23)
Eosinófilos (%)	1,52 – 3,22	0,09 – 0,63	0,2 – 3,5 (180)	0 – 7 (28)	0 – 6	0,3 - 4,0 (23)

Ref 1: Centro de Bioterismo da FMUSP (2008) [9].

Ref 2: Mitruka & Rawnsley (1997) [11].

Ref 3: Laboratório Charles River (2008) [10].

Ref 4: Centro de criação de animais de Laboratório da Fundação Oswaldo Cruz (2004) [12].

Ref 5: Harknes & Wagner (1993) [7].

----- Valores não realizados.

[#] O valor de (n) – não disponível.

De maneira geral, os parâmetros bioquímicos dos *Rattus norvegicus* linhagem Wistar, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Sergipe, não apresentaram similaridade com os demais estudos. As dosagens de FA, de colesterol, da glicose e das bilirrubinas total e frações estão dentro da faixa preconizada pelo estudo de Charles River (Ref. 3) [10] e os valores da uréia estão acima dos valores deste estudo. Os valores do colesterol encontram-se abaixo dos valores dos estudos de Dantas (Ref. 1) [5] e do Centro de Bioterismo da FMUSP (Ref. 2) [9]. Entretanto, as dosagens da glicose estão abaixo, somente, do estudo do Centro de Bioterismo da FMUSP (Ref.2) [9].

Em geral, tanto os parâmetros hematológicos e bioquímicos não apresentaram similaridades entre faixas de valores dos diversos estudos. Este fato ocorre devido ao emprego de diferentes metodologias adotadas, quanto ao equipamento e reagentes para dosagens bem como a utilização da análise manual ou automatizada. Desta forma, justifica-se a necessidade de determinar os valores de referência específicos para cada biotério.

Além disso, estas diferenças entre os estudos podem, ainda, estar relacionadas com a ausência de padronização quanto à dieta, tempo de jejum e estresse durante a coleta, aos quais os animais foram submetidos.

Por outro lado, os resultados hematológicos demonstraram que os valores de referência dos ratos da linhagem Wistar foram similares aos valores de referência para humanos, com exceção da quantidade de hemácias e de plaquetas. Os ratos possuem uma quantidade maior destes dois parâmetros hematológicos, o que confere maior viscosidade ao sangue e rápida coagulação. Assim os índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) que são calculados a partir das hemácias, hemoglobina e hematócrito sofrem também uma pequena alteração quando comparados aos valores de referência para humanos. Já em relação aos parâmetros bioquímicos, o TGO ou AST, esta enzima apresenta-se mais elevada, possivelmente pela influência da anestesia e estresse muscular os quais os ratos são submetidos para a coleta de sangue.

5. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados caracterizam as condições fisiológicas dos ratos de laboratório, mantidos no Biotério da UFS, sendo possível, assim, estabelecer valores de referência para criação desses animais, os quais são usados em diversas linhas de pesquisas de graduação e pós-graduação, tanto da UFS como também de outras instituições de ensino. Cabe ressaltar que para as dosagens bioquímicas o equipamento utilizado e a metodologia empregada influenciam diretamente nos resultados obtidos. Portanto, é necessário que cada laboratório estabeleça seus respectivos valores de referência de acordo com a automação utilizada.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Sr. Osvaldo A. Santos pelo suporte técnico. Este trabalho foi desenvolvido com auxílio financeiro do CNPq, CAPES, FAPITEC-SE.

-
1. CHORILLI, M.; MICHELIN, D.C.; SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 28: 11-23 (2007).
 2. ALMEIDA, A.S.; FALEIROS, A.C.G.; TEIXEIRA, D.N.S.; COTA, U.A.; CHICA, J.E.L. Valores de referência de parâmetros bioquímicos no sangue de duas linhagens de camundongos. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 44(6): 429-432 (2008).
 3. PINHEIRO, D.C.S.N.; FAVALI, C.B.F.; FILHO, A.A.S.; SILVA, A.C.M.; FILGUEIRAS, T.M. & LIMA, M.G.S. Parâmetros Hematológicos de Camundongos e Ratos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. *Bol. Inf. Cobeia*, São Paulo (3): 6-9 (1997/98).
 4. KANEKO JJ; HARVEY JW; BRUSS ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. San Diego, Academic Press. Cap.1: Concepts of Normality in Clinical Biochemistry, 1-9 (1994).
 5. DANTAS, J.A.; AMBIEL, C.R.; CUMAN, R.K.N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C.A. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci. Health Sci.*, 28(2):165-170 (2006).
 6. CLINICAL and LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. *Document C 28-A2* (2000).
 7. HARKNESS JE; WAGNER JE. Biologia e clínica de coelhos e roedores. 3ªed., Editora Roca, São Paulo (1993).
 8. PASSOS LAC. Análise do determinismo genético da resistência de camundongos infectados experimentalmente com a cepa y de *Trypanosoma cruzi* [Tese] Campinas: Instituto de Biologia. UNICAMP (2003).
 9. CENTRO DE BIOTERISMO DA FMUSP. Parâmetros bioquímicos de ratos do centro de bioterismo da FMUSP, 2008. Disponível em: http://www.biot.fm.usp.br/index.php?mpg=03.00.00&tip=RATO&id_ani=17¶metros=sim. Acessado em 05/11/2010.
 10. CLIFFORD CB; GIKNIS MLA. Clinical Laboratory Parameter for CrI:WI (Han), 2008. Disponível em: http://www.criver.com/SiteCollectionDocuments/rm_rm_r_Wistar_Han_clin_lab_parameters_08.pdf. Acessado em 05/11/2010.
 11. MITRUKA BM; RAWNSLEY, HM. Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals. New York, Masson Publishing, 272 (1977).
 12. FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ (FIOCRUZ). Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. Salvador (2005).